

明 細 書

抗腫瘍剤

技術分野

- 5 本発明は、1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび／またはアスコピロンを有効成分とする抗腫瘍剤に関する。

背景技術

- 1, 5-D-アンヒドロフルクトース（以下、1, 5-AFと略することがある）
10 は、ある種の子囊菌や紅藻が有する酵素 α -1, 4-グルカンリアーゼを利用して澱粉あるいは澱粉分解物を基質として生産することができる。1, 5-D-アンヒドロフルクトースは、グルコースから水分子が1つ取れた特異的な構造を有する糖である。既に、これまで抗酸化活性（特表平9-505988号公報参照）や抗菌活性を有することが報告されている（特開2001-89377号公報参
15 照）。さらに、最近の研究では高血糖抑制作用（特表2003-519660号公報参照）があることも報告されており、生理活性を持つ新規の糖としても注目されている。

- アスコピロンは1, 5-D-アンヒドロフルクトースから酵素反応によって調製できることが報告されている（WO03/38084、WO03/38085
20 およびWO03/38107参照）。元来アスコピロンはある種の子囊菌が生合成することが知られており（M. A. B a u t e . , p h y t o c h e m i s t r y , 33, (1991) 41-45参照）、P e z i z a l e s目例えば、P i c a r i a l e i o c a r p aおよびA n t h r a c o b i a m e l a l o m aならびにT u b e r a l e s目例えば、T u b e r m e l a n o s p o r u mの
25 菌体抽出液を1, 5-D-アンヒドロフルクトースに作用させ調製できることも報告されている。

アスコピロンP(2-Hydroxymethyl-5-hydroxy-2, 3-dihydro-4H-pyran-4-one) は、1978年および1

981年に、米国の科学者のグループによって、アスコピロンPを有機合成の出発物質として使用する目的で、アミロペクチン、アミロース、及びセルロースを熱分解することによって調製された(Shafizadeh, F., et al., Carbohydr. Res., 67, (1978) 433-447およびStevenson, F., et al., Carbohydr. Res., 90, (1981) 319-325参照)。

アスコピロンP (以下、APPと略することがある) は1, 5-D-アンヒドロフルクトースと同様に抗酸化活性、抗菌活性を有することが報告されている(WO02/26060、WO02/26061およびWO00/56838参照)。

- 10 現在、臨床の場で使用されている抗腫瘍剤の多くは、化学的性質上、酸化促進作用を有しており、副作用例えば肝障害、腎障害、骨髄抑制、肺障害等を併発する危険性が高い。これに対し、1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよびアスコピロンは抗酸化活性を有し、炎症細胞の活性化(活性酸素産生)をも抑制することにより、ブレオマイシン、シスプラチンなどの抗腫瘍剤にみられるような炎症性の組織障害を減弱させると考えられる。従って、他の抗腫瘍剤との併用において、抗腫瘍効果の増強が期待できるだけでなく副作用の軽減をもたらす化学療法補助薬への応用も期待できる。
- 15

発明の開示

- 20 本発明の目的は、1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび/またはアスコピロンの腫瘍の増殖ないし転移抑制のための使用を提供することにある。

本発明の他の目的は、1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび/またはアスコピロンを活性成分とし、炎症を抑制することが期待される、予後に優れた抗腫瘍剤を提供することにある。

- 25 本発明のさらに他の目的および利点は、以下の説明から明らかになる。

本発明によれば、本発明の上記目的および利点は、1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび/またはアスコピロンを含有することを特徴とする抗腫瘍剤によって達成される。

本発明において「抗腫瘍」とは、腫瘍の増殖ないし転移を抑制する作用を含む概念である。

すなわち、生体内に腫瘍細胞を保有する個体に本発明の剤を適当量しかるべき方法で投与することにより、有意に腫瘍の増殖ないし転移を抑制することが可能である。

本発明におけるアスコピロンとしては、例えば子囊菌 (Ascomycetes) 由来の 1, 5-D-アンヒドロフルクトース脱水酵素による 1, 5-D-アンヒドロフルクトースの脱水産物、あるいは 1, 5-D-アンヒドロフルクトースをアルカリ条件下で処理するか、或は、加熱処理を施すことによって生成されるような、化学的あるいは物理的操作による 1, 5-D-アンヒドロフルクトースの脱水生成物を挙げることができる。アスコピロンの例として、幾つかの構造式を図 1 に示す。

本発明の剤は、それ自体公知の種々の方法で投与することが可能であり、投与量、投与部位、投与する間隔、期間等は、患者の年齢や体重、病状あるいは他の薬剤や治療法と併用した場合などを考慮して決定することができる。

投与方法としては、例えば、注射や点滴などにより静脈内や皮下、腹腔内、あるいは経口投与などによることができ、特別に制限されない。

また、本発明の剤を食品に添加し、その食品を摂取して体内に取り込む形態をとることも可能である。

投与量は、投与方法、投与する間隔、腫瘍の種類および患者の重篤度により異なるが、例えば、一回あたりの投与量はアスコピロンでは $0.000001 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 1,000 \text{mg}/\text{kg}$ 、好ましくは $0.001 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 500 \text{mg}/\text{kg}$ とすることができ、また 1, 5-アンヒドロフルクトースでは、 $0.001 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 10,000 \text{mg}/\text{kg}$ 、好ましくは $0.01 \text{mg}/\text{kg} \sim 1,000 \text{mg}/\text{kg}$ とすることができる。

また、この一回の投与量を数回に分けて投与することもできる。

本発明の剤の形態としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、坐剤、注射剤、経皮吸収剤等が挙げられるが、特に制限されない。また、本発明の剤は、

製剤を調製するうえで必要な成分例えば、製剤担体や賦形剤、安定剤等を含むこともできる。さらに、本発明の効果を奏する限り、他の抗腫瘍剤あるいはその他の薬理成分あるいはブドウ糖などの栄養成分を含むことも可能である。

- 以下に本発明について検討した結果を詳述する。なお、以下の試験においては
- 5 1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよびアスコピロンは、公知の方法に基づいて調製したものを使用した。

試験例

細胞株および培養方法

- 接着系癌細胞株のC57 BL/6 マウスメラノーマ細胞株 (B16 melanoma)、ヒト肺腺癌細胞株 (A549)、ヒトケラチノサイト由来腫瘍様細胞株 (HaCAT)、ヒト子宮頸部癌細胞株 (HeLa) は10% FCS (ウシ胎児血清) と2% ペニシリン/ストレプトマイシンを添加したDMEM培地中で、37℃、CO₂濃度5%の条件下で培養した。浮遊系腫瘍細胞のTHP-1 (前骨髄性白血病細胞株) は10% FCSと2% ペニシリン/ストレプトマイシンを含むRPMI 1640培地中で、37℃、CO₂濃度5%の条件下で培養した。
- 10
- 15

生細胞数の測定方法

- 6ウェルのプレート上に増殖したB16 melanoma細胞を2% グルタルアルデヒドで固定した後、4% クリスタルバイオレットで染色し、その染色性
- 20 のある細胞を生細胞と判定した。

細胞死の割合および各細胞周期にある細胞の割合の測定方法

- 細胞培養液を種々の濃度のアスコピロンP溶液 (アスコピロンPをジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解したもの) で刺激し、所定の時間培養後、トリプシンを用い細胞を浮遊した状態で回収した。その後、4℃で30分間70% エタノールで固定した後、50 μg/ml プロピジウムヨード (PI) 溶液で染色した。30分後、FACSを用いて、DNAヒストグラムを作成し、細胞死の割合および細胞周期について調べた。
- 25

接着細胞数の測定方法

THP-1細胞培養液に1, 5-D-アンヒドロフルクトース溶液(1, 5-D-アンヒドロフルクトースをDMSOに溶解したもの)を添加し、次いでホル
5 ポールエステル(PMA; phorbol myristate acetate)で刺激した。37℃、5%CO₂条件下で一時間培養後、Giemsa染色法で接着した細胞を染色した。

結果および考察

10 1) アスコピロンPによる細胞増殖抑制効果

5×10³個/mlのB16 melanoma細胞(C57 BL/6 マウスメラノーマ細胞)を6ウェルのプレートに播種し、細胞が底面に接着後(24
h r)、培養液中の最終濃度が0~0.70mMになるようアスコピロンP溶液
(溶媒としてDMSOを使用)を等量ずつ添加した。37℃、5%CO₂条件下で
15 一週間培養後、生細胞数を測定した。

結果を図2に示す。コントロール(DMSOのみを添加)での生存細胞を100%としたとき、アスコピロンPを添加することで、生細胞の数は濃度依存的に
顕著に減少し、最終濃度(0.70mM)ではその割合は50%以下まで低下し
た。これらの結果から、アスコピロンPは腫瘍細胞の増殖抑制能を有すると考え
20 られた。

2) アスコピロンPによる腫瘍細胞アポトーシス誘導効果

B16 melanoma細胞に対するアスコピロンPの腫瘍細胞増殖抑制効果の機序が、他の抗腫瘍剤においてみられるような殺細胞効果によるものであるかを検討した。本検討項目において、B16 melanoma細胞以外に4種
25 類のヒト癌細胞株(THP-1:前骨髄性白血病、HeLa:子宮頸癌、A549:肺胞上皮癌、HaCaT:皮膚癌モデル細胞)を加えて、アスコピロンPの刺激により誘導される死細胞の割合を調べた。なお、ここでは各癌細胞培養液に対し、アスコピロンPを1.4mMになるように添加し、48時間後の死細胞の

割合を測定した。結果を表1に示す。

表1

癌細胞	死細胞の割合 (%)
THP-1 (前骨髄性白血病細胞)	33.3 ± 0.7
HeLa (ヒト子宮頸部癌細胞)	8.3 ± 2.0
A549 (ヒト肺腺癌細胞)	48.6 ± 3.8
HaCaT (ヒトケラチノサイト由来腫瘍様細胞)	27.2 ± 3.1
B16 melanoma (C57 BL/6 マウスメラノーマ細胞)	31.9 ± 3.6

- 表1より、アスコピロンPはそれぞれの癌細胞に由来する癌の種類を問わず、
 5 幅広いスペクトラムをもった殺細胞効果を示すことがわかる。さらに、HaCaT細胞を用いた実験系において、アスコピロンPを添加後(1.4mM)、48時間
 でアポトーシス特異的なDNAの断片化が認められた(図3)。このことから、アスコピロンPによる細胞死はアポトーシスであることが確認され、同じ結果が
 A549細胞を用いた系においても得られた。さらに、THP-1細胞を用いた
 10 系において、アスコピロンPは0.35mMで、48時間以内に細胞死を誘導することが認められた(図4)。

3) アスコピロンPの特異的細胞死誘導作用

- HaCaT細胞は、10%FCSの存在下では腫瘍細胞としての特徴を有しているが、低濃度のFCS存在下(1%以下)では、正常細胞に近い性格をもつこ
 15 とが知られている。この性質を利用して、アスコピロンPが正常細胞に及ぼす影響を検討した。結果を図5に示す。腫瘍様に増殖しているFCS10%条件下ではアスコピロンP添加後(1.4mM)、48時間以内で約30%もの細胞死を誘導したのに対し(図5(c))、正常細胞様の特徴をもつFCS1%では1.4mMのアスコピロンP存在下においても、ほとんど死細胞は認められなかった(図
 20 5(b))。これより、アスコピロンPは増殖性の高い細胞(腫瘍細胞)に特異的

に作用し、増殖の遅い細胞（正常細胞）にはほとんど影響を及ぼさないことが示唆された。

一方、FCS 10%で腫瘍様に増殖しているHeLa細胞において、アスコピロンP添加後（1.4mM）24時間では、顕著なS期細胞集団の増加およびG2/M期の細胞集団の減少が観察され（図6）、その後、48時間では先に示したように約10%の細胞死を誘導した。このことから、アスコピロンPの細胞周期上の作用点はDNA合成期間であるS期であり、G2/M期への移行を阻害し、結果として細胞死を誘導することが示唆される。したがって、アスコピロンPが抗腫瘍剤として生体に投与された場合、大半が細胞周期上のG0/1期にあると考えられる正常細胞に障害を与えることなく、腫瘍細胞にのみ特異的に殺細胞効果を発揮することが期待される。

4) 1, 5-D-アンヒドロフルクトースによるインテグリンの機能抑制作用

白血病細胞株をホルボールエステル（PMA）で刺激すると、接着分子インテグリンの活性化がみられ、その結果、細胞現象として活性酸素生成、細胞接着亢進、細胞浸潤が誘導されることが知られている。そこで、1, 5-D-アンヒドロフルクトース存在下で、THP-1細胞株を培養し、ホルボールエステルで刺激後の接着細胞数を指標としてインテグリン機能を評価した。

結果を図7に示す。12.3mMの1, 5-D-アンヒドロフルクトースはホルボールエステルによる細胞接着性を約25%程度に抑制した。従って、腫瘍細胞の転移において重要な役割を果たすと考えられるインテグリン分子の機能を1, 5-D-アンヒドロフルクトースは抑制しうることが推察された。

発明の効果

1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび/またはアスコピロンを用いることで、副作用を殆ど伴わずに腫瘍の増殖ないし転移を抑制できる。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明をさらに詳述する。本発明はかかる実施例により何

ら制限されるものではない。

実施例

実施例 1

- C57 BL/6 マウスにB16 melanoma細胞 (5×10^6 個)
- 5 を腹腔内に播種した後、15日目から毎日PBS（磷酸緩衝液）ならびにアスコピロンP溶液を腹腔内投与し（投与量は 200 mg/kg ）、生存率を調べた（癌性腹膜炎モデル）。この実験系において、予めB16 melanoma細胞をマウスの腹腔内に播種すると、無投与ならびにPBS投与の場合、14日目以降から個体（マウス）は死亡することが確認された。本実験系を用いて、アスコピロンPの末期癌モデルに対する延命効果について検討した結果を図8に示す。平均生存日数はアスコピロンP投与群では8日、PBS群は4日であり、生体内においても抗腫瘍効果を有することが証明された。さらに、アスコピロンP投与群の40%（ $n=2$ ）において、コントロール（PBS群）と比較して3倍以上ものアスコピロンP投与後の生存期間の延長がみられた。このことは、アスコピロンPの *in vivo* における抗腫瘍効果を意味するものである。
- 10
- 15

実施例 2

- 実施例1と同様にC57 BL/6マウスにB16 melanoma細胞 (5×10^6 個)を腹腔内に播種した後、2日目から毎日PBSならびに1,5-D-アンヒドロフルクトースを腹腔内投与した（投与量は 200 mg/kg ）。生存率を図9に示す。腫瘍細胞播種後の平均生存日数は1,5-D-アンヒドロフルクトース群が19日、コントロールのPBS群が14日であった。この結果から、1,5-D-アンヒドロフルクトースの担癌マウスに対する延命効果が認められた。
- 20

実施例 3

- 25 次に、C57 BL/6 マウスにB16 melanoma細胞 (1×10^5 個)を背中に皮下播種し、3日目から13日目までPBSならびにアスコピロンPを1日おきに腫瘍局所に皮下注射し（PBSに溶かした溶液を用い投与量は 25 mg/kg とした）、腫瘍の容積（長径 \times 短径 $^2 \times 0.52$ ）で抗腫瘍効果を評

価した（図10）。腫瘍細胞播種後、7日目まではいずれも差は認められなかったが、7日目以降アスコピロンP投与群はPBS投与群と比べて顕著に腫瘍の容積が少ないことがわかった。一般に、臨床の間では腫瘍の増大速度が遅いものほど予後が良好といわれる。すなわち、アスコピロンPの *in vivo* における抗腫瘍効果を示すものである。また、アスコピロンP投与群の屠殺後の解剖所見では腫瘍の転移はほとんど観察されなかった。

実施例4

前骨髄性白血病細胞（THP-1細胞）の細胞培養液を種々の濃度のアスコピロンP溶液（アスコピロンPをDMSOに溶解したもの）、シスプラチン溶液（同様にDMSOで溶解）、さらにアスコピロンPとシスプラチンの混合溶液で刺激し、48時間培養後、十分にピペティングして均一な単一細胞からなる浮遊液の状態で回収した。ここで一部は血球計算板を用い顕微鏡下で細胞数を測定した。残りの細胞浮遊液は4℃で30分間70%エタノール固定した後、最終50 μ g/mlプロピジウムヨード（PI）溶液で染色した。30分後、FACSを用いてDNAヒストグラムを作成し、細胞死の割合を調べ各々の生細胞数を算出した（図11）。コントロール（DMSOのみを添加）での生細胞を100%としたとき、アスコピロンPを添加することでその割合は30%前後から約50%まで減少し、細胞の増殖抑制効果が確認された。一方、シスプラチンとアスコピロンPを併用した群の生細胞の割合は、10%前後であり、アスコピロンPとシスプラチンとの相乗効果が確認された。

図面の簡単な説明

図1はアスコピロンの構造式例

図2はクリスタルバイオレット染色法による、アスコピロンPの細胞増殖抑制能評価

図3はアガロースゲル電気泳動法によるDNA断片化解析

図4はフローサイトメトリー（FACS）による死細胞の定量的評価

図5はフローサイトメトリー（FACS）による死細胞の定量的評価

図6はフローサイトメトリー（FACS）による細胞周期

図 7 は白血病細胞株におけるインテグリンの機能評価

図 8 は（実施例 1）アスコピロン P 投与後のマウスの生存率

図 9 は（実施例 2）1, 5-D-アンヒドロフルクトース投与後のマウスの生存率

5 図 10 は（実施例 3）アスコピロン P 投与後マウスの腫瘍容積の評価

図 11 は（実施例 4）アスコピロン P とシスプラチンの細胞増殖抑制能評価

請求の範囲

1. 1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび／またはアスコピロンを抗腫瘍成分として含有することを特徴とする腫瘍の抗腫瘍剤。

5

2. アスコピロンがアスコピロンPである、請求項1に記載の抗腫瘍剤。

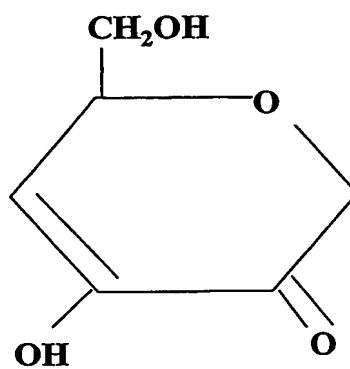
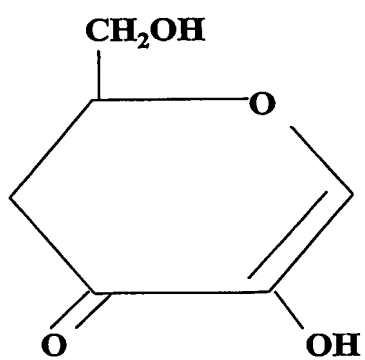
3. 1, 5-D-アンヒドロフルクトースおよび／またはアスコピロンの、腫瘍の増殖ないし転移の抑制のための使用。

10

4. アスコピロンがアスコピロンPである、請求項3に記載の使用。

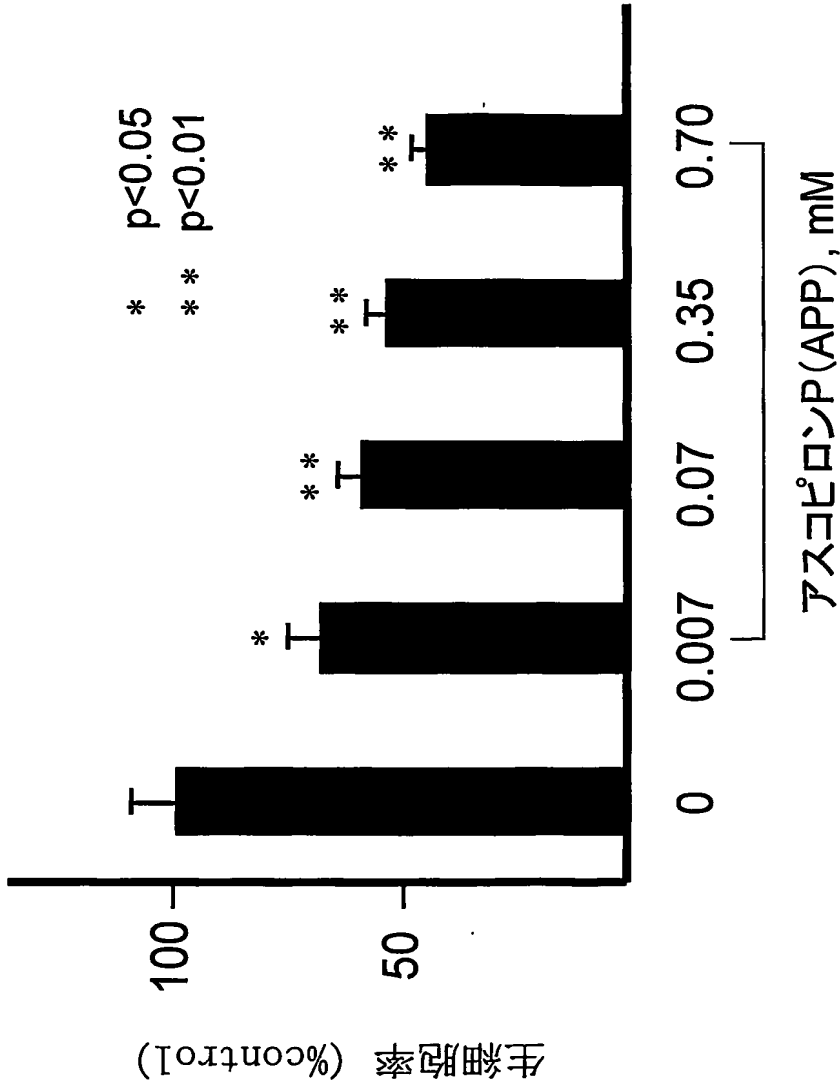
1 / 1 1

図 1



2 / 1 1

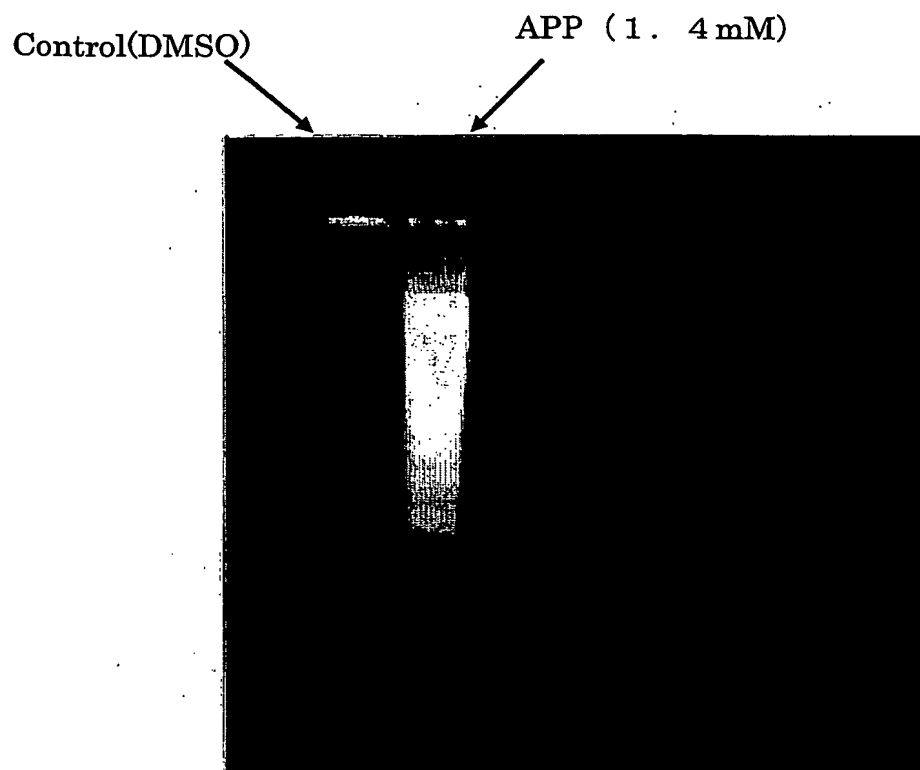
図 2



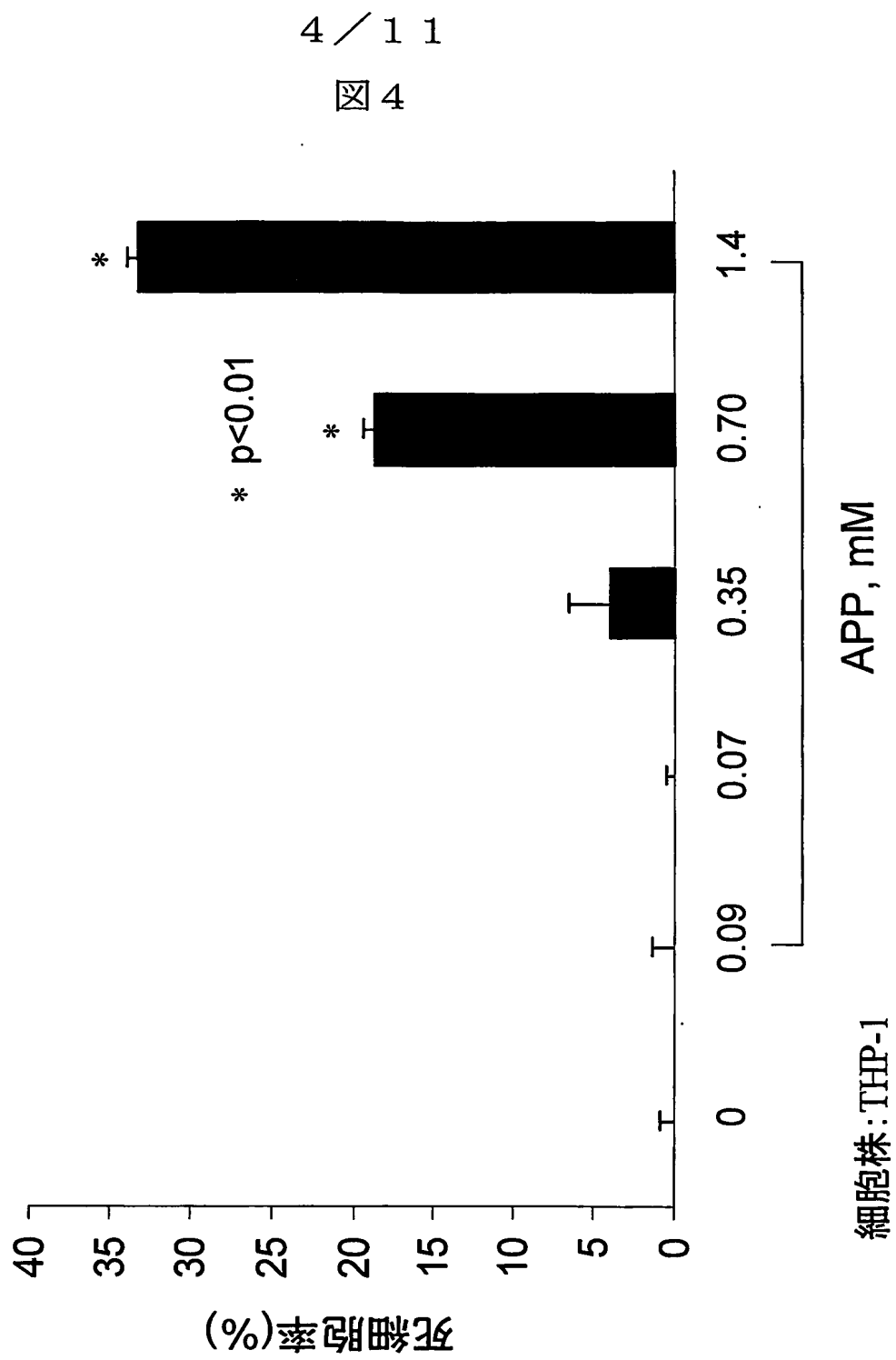
細胞株: B16 melanoma

3 / 1 1

図 3

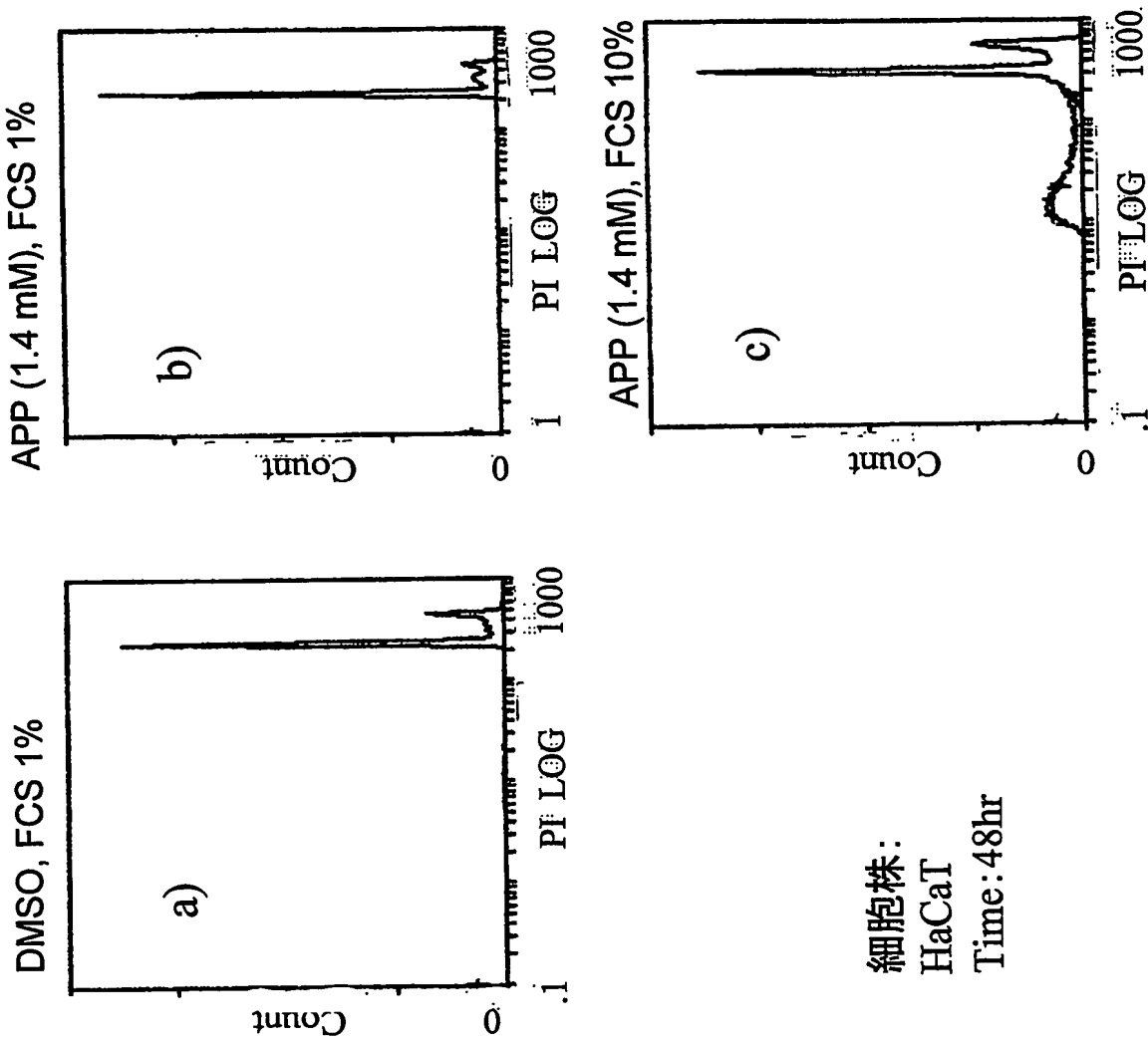


細胞株: HaCaT
Time : 48hr

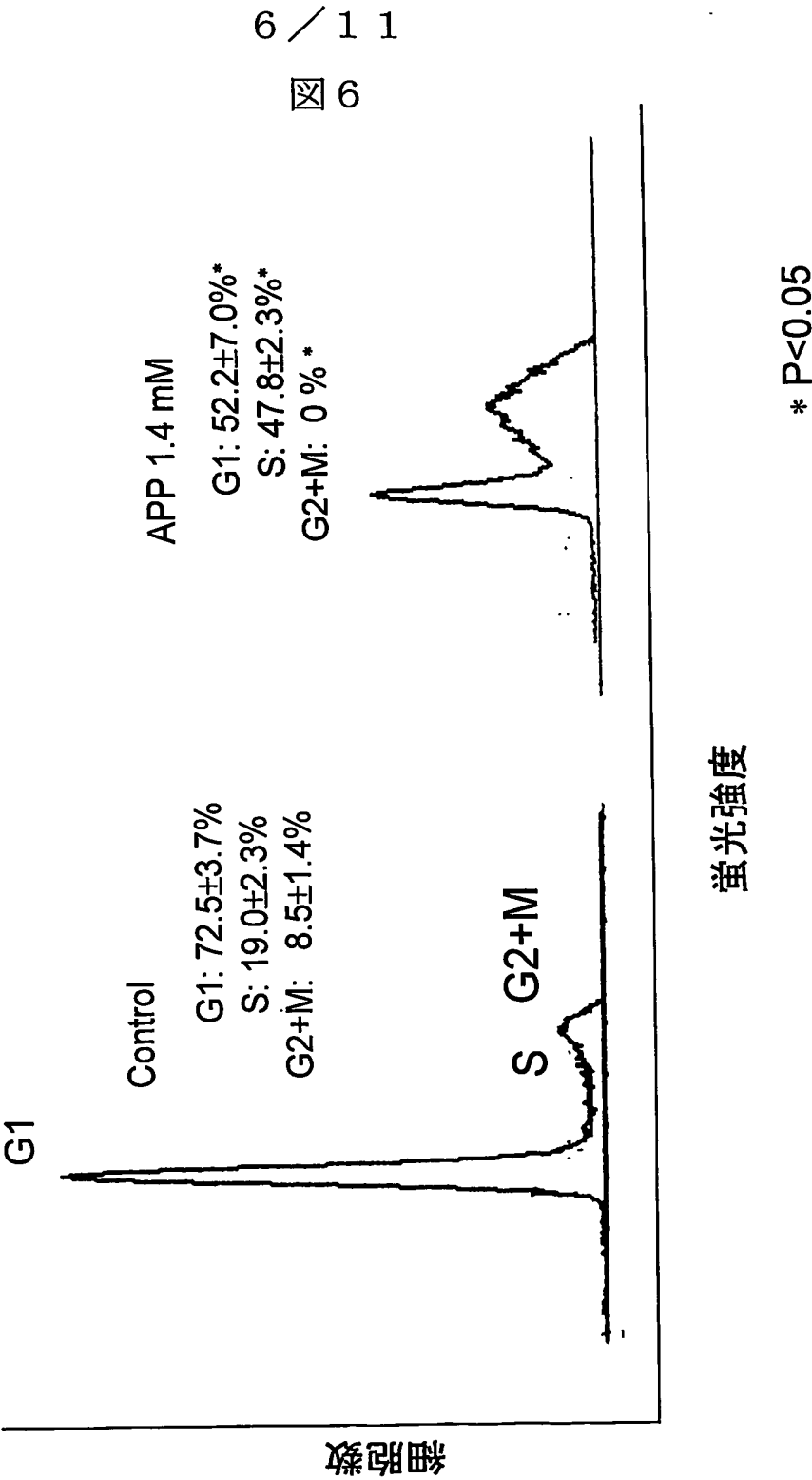


5 / 1 1

☒ 5

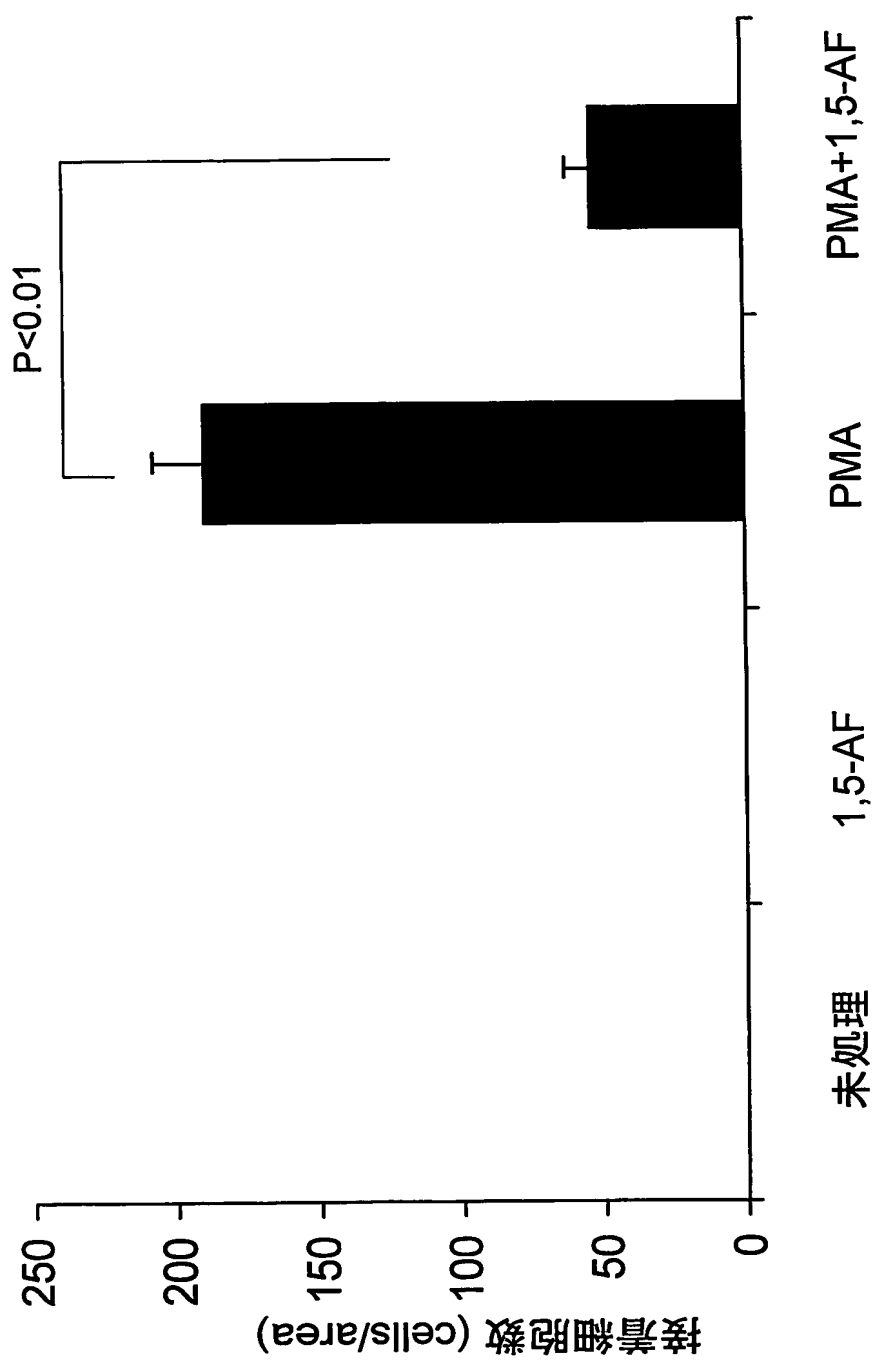


細胞株:
HaCaT
Time:48hr



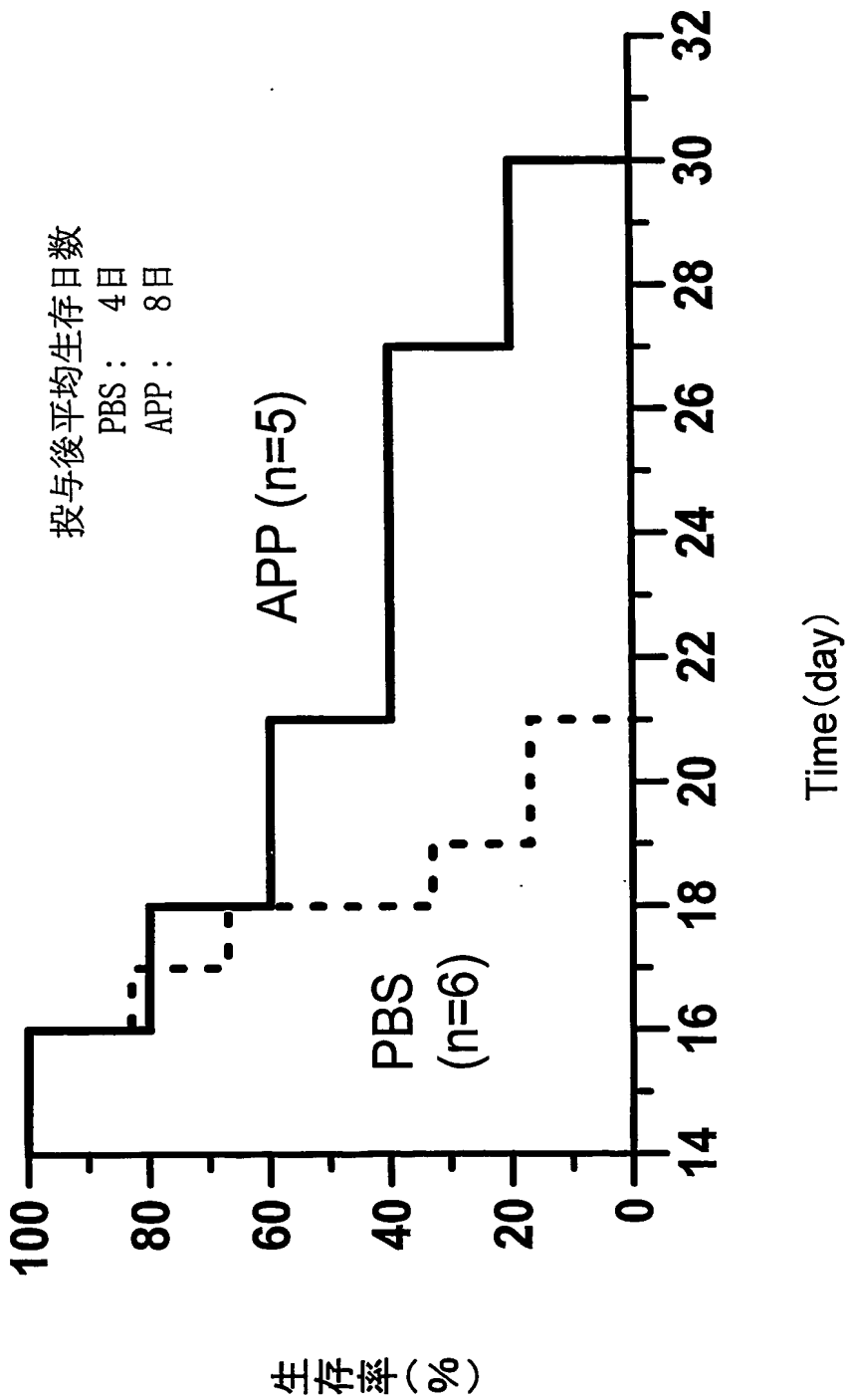
7 / 1 1

図 7



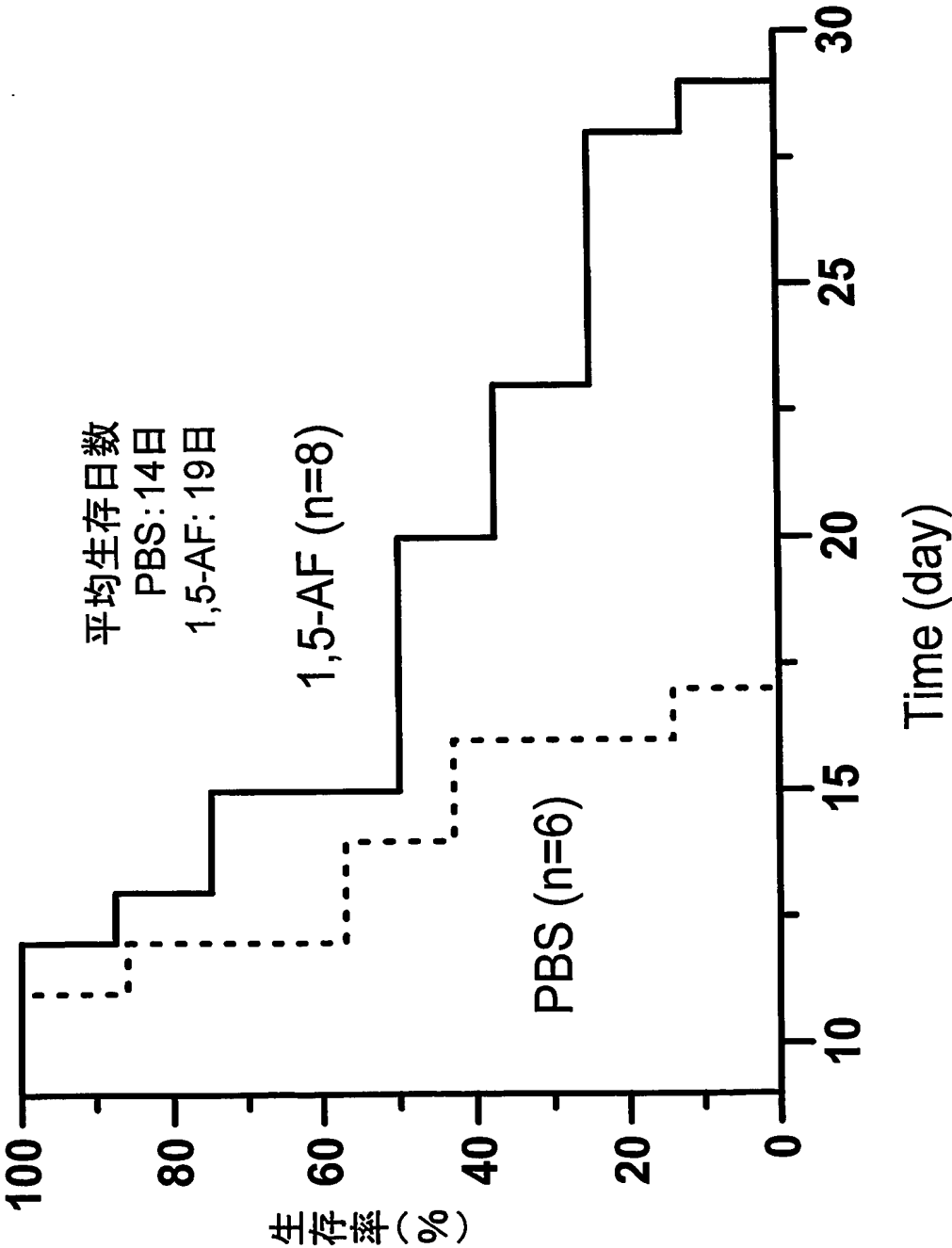
8 / 1 1

図 8



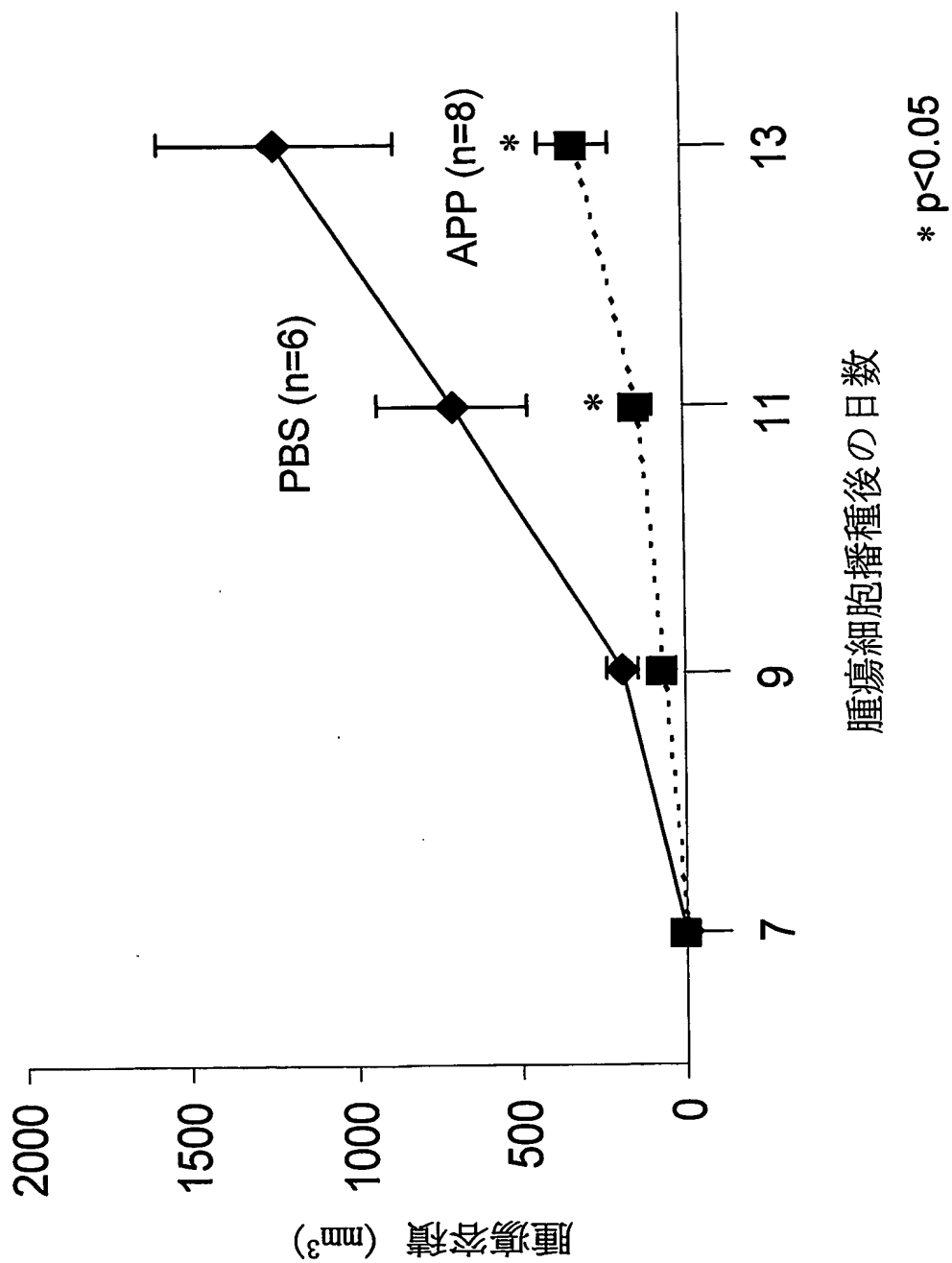
9 / 1 1

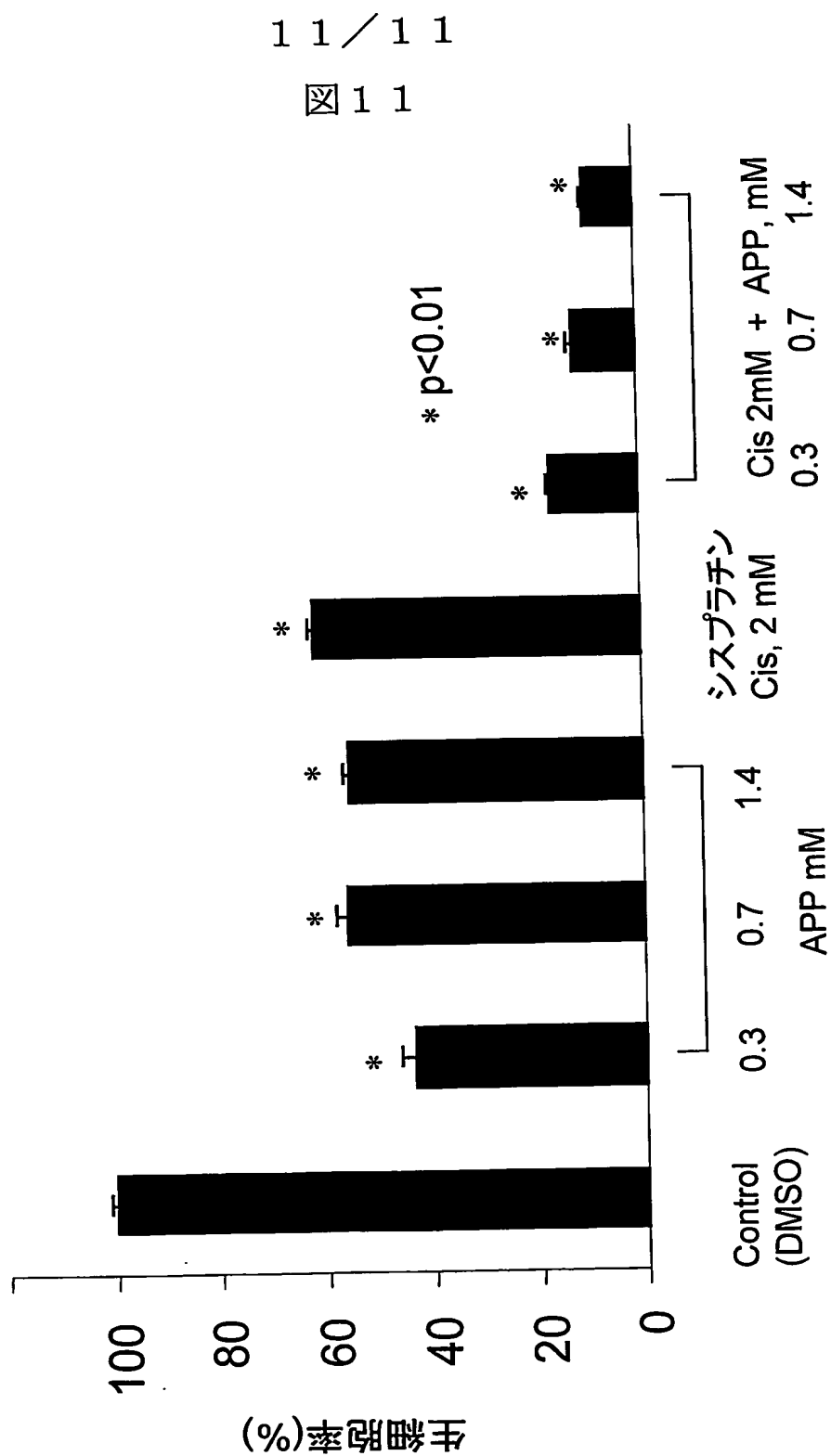
図 9



10 / 11

図 10





細胞株: THP-1
Time : 48hr

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016354

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07D309/30, 309/32, A61K31/351, 31/7004, A61P29/00, 35/00, 39/06, C07H3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07D309/30, 309/32, A61K31/351, 31/7004, A61P29/00, 35/00, 39/06, C07H3/10

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY, CAPLUS, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 9-505988 A (DANISCO A/S), 17 June, 1997 (17.06.97), Full text & WO 1995/010616 A2	1-4
A	JP 2001-89377 A (NIHON STARCH CO., LTD.), 03 April, 2001 (03.04.01), Full text (Family: none)	1-4
A	WO 2002/26060 A1 (DANISCO A/S), 04 April, 2002 (04.04.02), Full text & US 2003/203963 A1	1-4

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
07 February, 2005 (07.02.05)

Date of mailing of the international search report
01 March, 2005 (01.03.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016354

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 8-59646 A (Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.), 05 March, 1996 (05.03.96), Full text (Family: none)	1-4
A	WO 2001/051480 A1 (Takara Bio Inc.), 19 July, 2001 (19.07.01), Full text & US 2003/158250 A1	1-4

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07D309/30, 309/32, A61K31/351, 31/7004, A61P29/00, 35/00, 39/06, C07H3/10

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁷ C07D309/30, 309/32, A61K31/351, 31/7004, A61P29/00, 35/00, 39/06, C07H3/10

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY, CAPLUS, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 9-505988 A (ダニスコ エイ. エス) 1997. 06. 17 全文 & WO 1995/010616 A2	1-4
A	JP 2001-89377 A (日本澱粉工業株式会社) 2001. 04. 03 全文 (ファミリー無し)	1-4
A	WO 2002/26060 A1 (DANISCO A/S) 2002. 04. 04 全文 & US 2003/203963 A1	1-4

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

07. 02. 2005

国際調査報告の発送日

01. 3. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

洲野 留香

4 P

9048

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリ*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 8-59646 A (石原産業株式会社) 1996.03.05 全文 (ファミリー無し)	1-4
A	WO 2001/051480 A1 (タカラバイオ株式会社) 2001.07.19 全文 & US 2003/158250 A1	1-4